

血清 IgA およびリンパ球培養上清中 IgA の Heterogeneity の解析

— とくに血清 IgA の産生起源について —

嵐 方 之

札幌医科大学内科学第 1 講座 (主任 谷内 昭 教授)

Analytical Studies on the Heterogeneity of IgA
Molecules in Serum and Culture Medium of
Lymphocytes from Various Sources
— With Special Reference to the Production Sites of Serum IgA —

Masayuki ARASHI

*Department of Internal Medicine (Section I), Sapporo Medical College
(Chief : Prof. A. Yachi)*

The heterogeneity of IgA molecules was analysed by high speed liquid chromatography and radioimmunoassay, and changes in the proportion of polymeric and monomeric IgA were investigated with regard to sera from normal controls and patients with liver cirrhosis, the specific IgA-type antibodies against extrinsic antigens, and the culture media of lymphocytes from peripheral blood, the large bowel mucosa, mesenteric lymph nodes, palatine tonsils and bone marrow blood. The results led to the following conclusions:

1. The above method resulted in separation of polymeric and monomeric IgA in various samples with more accuracy and ease and within a shorter period of time than has been reported with any previous methods.

2. The molecular form of IgA in sera from normal controls mainly consisted of monomeric IgA, with the mean proportion being 82% of total IgA, while its proportion of polymeric IgA was 18%. IgA in the sera of bone marrow blood showed the same ratio as peripheral blood. On the other hand, an increased proportion of polymeric IgA was observed in sera from patients with liver cirrhosis with an average of 32%.

3. The IgA-type HA antibody was detected in sera from patients with an early phase of hepatitis A, and its main activity was observed in dimeric fractions of IgA. In addition, 55% of the IgA-type antibody against lactalbumin in patients with liver cirrhosis showed the polymeric form. These results indicate that specific IgA-type antibodies in sera against extrinsic antigens passing through the intestinal mucosa exhibited the polymeric form and that some of these antibodies seem to be derived from a gut-associated lymphoid system (GALS).

4. Peripheral blood lymphocytes (PBL) from normal controls produced mainly polymeric IgA, on the average of 74%. This contrasted strongly with serum IgA. PBL from patients with liver cirrhosis, however, produced a relatively higher proportion of monomeric IgA (32%) than those from normal controls.

5. Lymphocytes isolated from the intestinal mucosa and mesenteric lymph nodes produced primarily polymeric IgA (74%), while those from bone marrow blood produced predominantly monomeric IgA (76%). Lymphocytes from palatine tonsils produced the nearly same proportion of polymeric IgA (56%) and monomeric IgA (44%).

From these results, the heterogeneity of serum IgA molecules appears to primarily depend on the production of IgA in GALS. At the same time, however, these findings suggest the possibility that the catabolism of IgA in the liver might play an important role in the regulation of serum IgA.

(Received February 1, 1982 and accepted March 1, 1982)

1 結 言

腸管局所免疫機構の主役を演ずる分泌性 IgA は外来抗原と直接に接触する粘膜面で機能を発揮するという生体防御のうえで重要な役割を演じている.¹⁾この点に着目して、著者の所属する当講座においては消化器病変における IgA 系を中心とする局所免疫機構の変化を検討^{2,3)}してきたが、本研究はその一環として行ったものである。

従来血清中の IgA 分子は monomer, dimer および polymer から成り heterogeneity を示すが、その産生起源との関係については未だ明確な回答は得られていない。そこで本研究では第 1 に血清 IgA の分子性状を健康対照および肝硬変症などの高 IgA 血症を呈する病態において比較するため、高速液体 chromatography (HLC) により IgA を polymer, monomer 別に分離測定して、それらの病的変動を明らかにし、第 2 には末梢血リンパ球、腸管リンパ球等各種リンパ組織由来のリンパ球培養により産生される IgA について HLC によりその分子性状を調べ、血清 IgA の heterogeneity と対比してその産生起源を考察することを目的とした。

2 方 法

2.1 血清およびリンパ球培養上清の採取法

2.1.1 末梢血および骨髄血の血清

健康対照 10 例および肝硬変症 16 例の末梢血血清（以下単に血清と呼ぶ）ならびに hypergammaglobulinemia を伴わない低形成性貧血 3 例と難治性の貧血を有した胃潰瘍患者 1 例の骨髄血血清を採取した。これらを phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) により 8 倍に希釈して HLC の試料とした。

2.1.2 肝硬変症患者血清中の抗 lactalbumin 抗体の分離

肝硬変症 11 例の各血清について affinity chromatography を用いて抗 lactalbumin (L-alb) 抗体を分離し、HLC の試料とした。

Affinity column の作製は、まず 0.5 M NaCl 加 0.1 M NaHCO₃ 溶液 25 ml に L-alb (和光純薬) 50 mg を溶解し、CNBr-activated Sepharose 4 B

(Pharmacia 社) 5 g と室温で 2 時間反応させた。ついで上記の NaHCO₃ 溶液で洗浄後、1 M monoethanolamine (pH 8.0) と 1~2 時間反応させて活性基を block し、さらに 1 N NaCl 加 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) と 1 M NaCl 加 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 8.0) により交互に洗浄した後、column に充填した。この方法により、L-alb (50 mg) の約 90% を Sepharose 4 B に結合し得た。

ついで 0.15 M NaCl および 0.05% NaN₃ を加えた 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) で十分に洗浄した後、肝硬変症患者血清 5 ml を column に添加し、さらに同緩衝液で 24 時間洗浄した。少量の 0.5 M NaCl で洗浄した後、3 M NH₄SCN 15 ml を用いて column に結合している抗 L-alb 抗体を溶出した。蛋白を分光光度計 (280 nm) で検出した後、直ちに PBS (pH 7.4) に透析した。また、HLC に試料として用いるときには minicon B-15 (amicon 社) により 50 μ l 以下まで (約 100 倍) に濃縮した。同様の方法により健康対照 2 例の血清についても抗 L-alb 抗体を分離した。

2.1.3 各種リンパ球の分離

末梢血リンパ球 (PBL) の分離は健康対照 11 例および肝硬変症 13 例を対象として、heparin 0.5 ml を加えて末梢血 5 ml を採血し、Conray-Ficoll 比重遠心 (C-F) 法により行った。

骨髄血リンパ球 (BML) の分離は、貧血を伴った Kimmelstiel-Wilson 症候群 1 例および貧血高度の肝硬変症 1 例の骨髄穿刺に際して、骨髄血の 150 μ l を heparin 0.3 ml を加えた生理食塩液 5 ml 中に注入して細胞を浮遊させ、ついで末梢血と同様に C-F 法により行った。なお、このリンパ球分画中にはリンパ球が 65~70% 含まれ、残りは骨髄球系および赤芽球系細胞の混入が認められた。

腸間膜リンパ節は大腸癌 2 例、胃潰瘍 1 例、胆石症 1 例の手術時にそれぞれ S 状結腸間膜、横行結腸間膜および大網より計 5 個採取し、直ちに minimum essential medium (MEM: 日水社) 中で細切した後、金属メッシュ (mesh size, 0.5 mm) 上で圧搾し、それを通過した細胞から C-F 法によりリンパ球分画を得た。

口蓋扁桃は慢性扁桃炎 3 例より摘出術により得られた組織材料から同様の方法でリンパ球を採取した。

大腸粘膜リンパ球の分離は Bland et al⁴⁾ の方法に準じた。大腸癌患者の手術時に摘出された非癌部大腸組織を 3 cm 採取し、粘膜を剝離した後、上記同様にこれを細切し、金属メッシュを通し、ついで脱脂綿を通過させて、C-F 法によりリンパ球を採取した。

2.1.4 リンパ球の培養方法

リンパ球の培養液は蒸留水 500 ml に RPMI 1640 (GIBCO 社) 5.2 g, HEPES (SIGMA 社) 2.95 g, ABPC 100 mg, KM 50 mg, NaHCO₃ 1 g を溶解して、Millipore filter (MILLIPORE CORPORATION) を通し、さらに熱処理ウシ胎児血清 (Granite Diagnostics) を 10% になるように混合し、もう一度 Millipore filter を通して用いた。

リンパ球は上記培養液 1 ml 中に 1×10^6 個浮遊させ、pokeweed mitogen (PWM: GIBCO) 10 μ を添加し、CO₂-incubator 内で 37°C 7 日間培養した。培養上清はその 100 μ l を RIA による IgA 濃度の測定に使用し、残りの 900 μ l を minicon A-25 で 50 μ l に濃縮し、HLC 分画の試料として用いた。

2.2 高速液体 chromatography による分画法

東洋ソーダ社 HLC 装置 803 A を使用し、column は G-3000 SW を 2 本用いて行った。試料の血清およびリンパ球培養上清濃縮液それぞれ 20 μ l を column に添加し、溶出には 0.15 M NaCl 加 0.02 M 酢酸緩衝液 (pH 6.0) を使用して、流速は 0.8 ml/min とした。試料添加 24 分後より 30 秒 (0.4 ml) ずつ分画採取し、その各分画について IgA 濃度を RIA により測定した。

各分画の溶出部位と分子量の関係を知るために、既知の分子量の標準試料として、gel filtration calibration kit (Pharmacia 社) により blue dextran (M.W. 2,200,000), thyroglobulin (M.W. 667,000), ferritin (M.W. 440,000), catalase (M.W. 232,000), aldolase (M.W. 158,000), bovine serum albumin (M.W. 67,000), ovalbumin (M.W. 43,000), chymotrypsinogen (M.W. 25,000), ribonuclease A (M.W. 13,700) を用いて標準曲線を作製した。

2.3 Radioimmunoassay による IgA 濃度の測定

各試料の HLC 分画中ならびにリンパ球培養上清中の IgA 濃度は既に報告⁵⁾した方法に準じて、固相法による RIA で測定した。

2.3.1 抗 α 鎖抗体の bead への結合

略述すると、まず polyacetal bead を 2.5% gluta-

raldehyde (0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 8.0) で活性化し、0.15 M NaCl 加 0.1 M 炭酸緩衝液 (pH 9.5) に対して十分に透析した抗 α 鎖抗体 (DAKO 社) を 200 μ g/ml の濃度で反応させて抗体を結合させた。ついで bead を 0.2 M monoethanolamine (pH 8.5) と反応させて活性基を十分に block した後 0.1% BSA (生化学工業)、0.1 M NaCl および 0.1% sodium salicylate を含む 0.01 M 酢酸緩衝液 (pH 5.0) 中に保存した。

2.3.2 抗 α 鎖抗体の ¹²⁵I 標識

McConahey and Dixon⁶⁾ に従い ¹²⁵I 標識を行った。抗 α 鎖抗体 (DAKO 社) を PBS (pH 7.4) で十分に透析した後、10 mg/ml の濃度に調整し、その 1 ml に Na¹²⁵I (Amersham 社) 3.5 mCi、ついで chloramine T 0.1 ml (0.7 mg/ml) を添加して、室温で 80 秒間十分に攪拌し標識した。それに sodium metabisulfite 0.1 ml (0.5 mg/ml) を加えて反応をとめ、さらに 0.3% BSA 加 PBS 1 ml を加えた。これをあらかじめ 0.3% BSA 加 PBS で膨潤した Sephadex G-25 column (1.2 \times 20 cm) で分画し、¹²⁵I 標識抗体と遊離 ¹²⁵I を分離した。この方法により得られた抗体の比放射活性は 263 μ Ci/mg であった。

2.3.3 RIA のプロトコール

IgA 濃度の測定は duplicate で行った。まず polystyrene tube (栄研) に血清 HLC 分画 50 μ l と 0.3% BSA 加 PBS 250 μ l を混合し、ついで抗 α 鎖抗体結合 bead を加えて攪拌し、4°C で 18 時間反応させた後、bead を PBS で 3 回洗浄した。¹²⁵I 標識抗 α 鎖抗体は 5×10^5 cpm/ml となるように 0.3% BSA 加 PBS で調整した。その 100 μ l と 0.3% BSA 加 PBS 200 μ l を bead に加え、再び攪拌し、室温で 18 時間放置した。ついで PBS で 3 回洗浄後 γ -counter (LKB 社) で各 bead の放射能 (cpm) を測定した。

また、リンパ球培養上清の IgA 濃度を測定する場合は試料を 50 μ l 用い、一方、HLC で分画したリンパ球培養上清および抗 L-alb 抗体の IgA 濃度を測定する場合には IgA 濃度が低いため、試料をそれぞれ 190 μ l 用いた。

2.3.4 IgA 検量曲線の作製

標準ヒト IgA 溶液 (Hoechst 社) を PBS で希釈して、10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000 および 10000 ng/ml の各濃度に調整し、IgA 濃度の検量曲線を求めた。

また、IgA 型 myeloma 患者血清より精製した dimer 型 IgA を (NH₄)₂CO₃ に十分に透析した後、凍結乾燥し、その重量を測定して、標準試料と同濃度に

調整し、RIA を行って検量曲線を求めた。

2.3.5 Polymer 型および monomer 型の IgA の比率の測定

HLC により dimer 型および monomer 型 IgA の分離は明確であるが、一方、dimer 型と polymer 型は前者が大部分を占めるものの、両者の分離は明らかでなく、一括して polymer 型 IgA とした。polymer 型 IgA と monomer 型 IgA の比率は IgA 濃度による各分画の曲線下の面積より求めた。

2.4 Dimer 型 IgA 分画の性状

HLC で分画した dimer 型 IgA について、その性状を検索するために以下の実験を行った。

2.4.1 Dimer 型 IgA 分画と secretory component との結合性

まず高 IgA 血症を呈した肝硬変症 H. R. 例の血清を HLC 分画し、dimer 型 IgA 分画を採取して濃縮した。ついで小林⁷⁾の方法によりヒト乳汁より分離・精製した secretory component (SC) 10 mg/ml を McConahey and Dixon⁸⁾に従い (2・3・2 項に述べた方法)¹²⁵I 標識し、その 10 μ l と上述の dimer 型 IgA 分画 0.5 ml を混合し、48 時間室温で incubate した。同試料を Sephadex G-200 (1.2×96 cm) でゲル濾過し、1 ml ずつ分画採取して各分画の放射能を γ -counter で測定して dimer 型 IgA と SC の結合を調べた。一方、あらかじめ IgA 型 myeloma 患者より得た dimer 型 IgA を同じ Sephadex column で分画し、分光光度計で各分画の O. D. (280 nm) を測定して dimer 型 IgA の溶出部位を決定し、これを対照として上の結果と比較した。

2.4.2 Dimer 型および monomer 型 IgA 分画の免疫電気泳動分析

HLC により H.R. 例の dimer 分画および monomer 分画をそれぞれ採取して minicon B-15 で濃縮し、抗 α 鎖抗体および抗ヒト血清抗体を用いて免疫電気泳動分析を行った。

2.5 IgA 型および IgM 型 HA 抗体の HLC による分析

HAVAB-kit (Dainabot 社) による RIA⁹⁾で A 型肝炎 (HA) と診断された N.N. 例 (10 歳, 男子) の発症初期血清を前述の 2・2 と同様に HLC で分画して、各分画中の IgA 濃度と IgA 型および IgM 型 HA 抗体価を測定し、その分子性状を解析した。

血清 IgM 型 HA 抗体の測定⁹⁾は HAVAB-M kit (Dainabot 社) を用いた。同 kit では抗ヒト μ 鎖を coat した bead に患者血清を反応させ、ついで HA

抗原、¹²⁵I 標識 HA 抗体を反応させる。Cut off 値は kit に添付されている陰性 control 血清 cpm と陽性 control 血清 cpm の 1/10 との和として求め、検体の抗体価は検体の cpm と cut off 値との比 (S/C 比) として表現した。

血清 IgA 型 HA 抗体の測定¹⁰⁾は上述の HAVAB-M kit を応用した。すなわち、抗ヒト μ 鎖 bead の代りに 2・3・1 の方法で作製した抗ヒト α 鎖 bead を用い、以下の操作は HAVAB-M kit に準じて行った。

3 成 績

3.1 HLC による標準溶出曲線の作製

標準試料を用いて HLC を施行し、O.D. (280 nm) を測定して標準溶出曲線を得、Fig. 1 に示した。

Thyroglobulin (M.W. 667,000) 以上では分離能は不良であるが、thyroglobulin から ribonuclease A (M.W. 13,700) までの曲線はなだらかで分離が良好であった。しかし、catalase や chymotrypsinogen など一部の蛋白は標準溶出曲線からはずれて溶出された。

3.2 IgA の RIA による検量曲線

IgA を RIA により測定してその検量曲線を Fig. 2 に示した。この方法では IgA は 250 ng/ml から 2500 ng/ml の範囲で再現性のよい測定が可能であった。一方、dimer 型 myeloma IgA を用いて作製した検量曲線も実測範囲の 250 ng/ml から 2500 ng/ml では上記とほとんど同様の検量曲線を示した。

3.3 HLC による血清 IgA の分画

3.3.1 健康対照血清

健康対照 N.K. 例の血清を HLC で分画し、分光光度計で O.D. (280 nm) を測定して蛋白溶出像を描き、また同時に各分画の IgA 濃度を RIA で測定して Fig. 3 に示した。血清蛋白溶出像では void volume に位置する第 1 peak は高分子の β リボ蛋白や IgM に相当し、第 2 peak は主として IgG、第 3 分画は albumin に相当する。一方、RIA による IgA 溶出像は Fig. 3 に示すように、3 つの peak に分画され、分子量の大きい順に左端の Fraction (Fr.) 3 の小さな peak が polymer, Fr. 6 の peak が dimer, Fr. 17 の大きな peak が monomer に相当する。この場合 polymer と dimer との分離は必ずしも完全ではなかった。以下には、特記しない限りにおいて dimer および polymer を一括して polymer と呼ぶことにする。

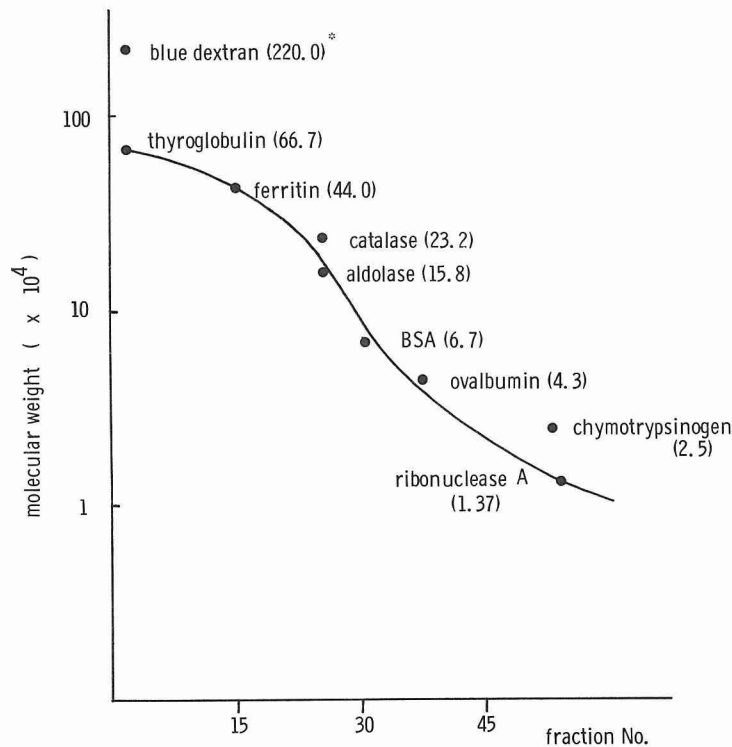


Fig. 1 Standard elution curve by high speed liquid chromatography (HLC)
(*) : molecular weight ($\times 10^4$)

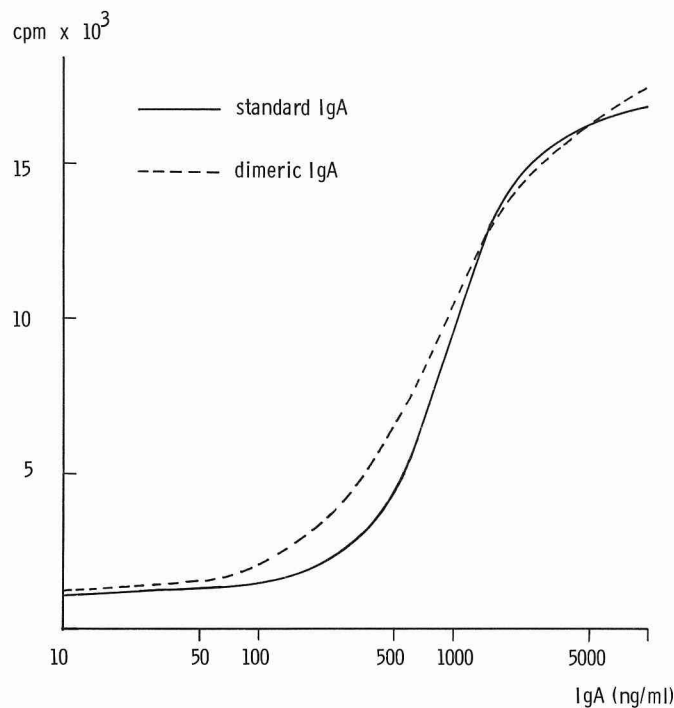


Fig. 2 Calibration curve of IgA by RIA

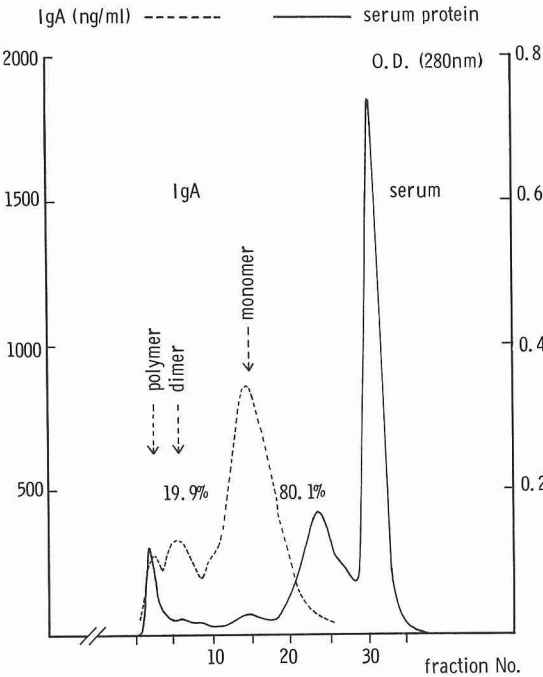


Fig. 3 Elution patterns of serum proteins and IgA by HLC in a healthy control (N.K.).
(Serum IgA : 164 mg/dl)

Monomer 型 IgA は分子量が IgG に近く、IgG と同様の部位に溶出すると考えられるが実際には IgG よりも大きい分子量に相当する部位に溶出された。また dimer 型 IgA も同様に標準曲線に比較すると分子量の大きい部位に溶出された。

Fig. 3 に示した N.K. 例では polymer 19.9%,

monomer 80.1%であったが、健康対照 10 例の血清についての結果を Table 1 に示した。血清 IgA 濃度および polyme(%), monomer(%)の平均値±σ(変動域)はそれぞれ 197±65 mg/dl(130~314), 17.7±6.0% (9.6~28.9) および 82.3±6.0%, (71.1~90.4) を示し, monomer 型 IgA が優位であることが明らかにされた。

3・3・2 肝硬変症例の血清

肝硬変症例の血清蛋白の溶出像とそれに対応する血清 IgA の溶出像として、代表的な K.T. 例について Fig. 4 に示した。血清蛋白分画像では高分子蛋白の増加と IgG の著明な増加, albumin の低下が認められ、また IgA の dimer および monomer に対応する部位に小さな peak の出現をみた。

一方、IgA 溶出像についてみると、polymer および monomer とともに増加しているが、polymer が著明な増加を示した。この症例では polymer 40.6%, monomer 59.4%であり、polymer の比率が健康対照と比べて増加を示した。

肝硬変症 16 例については Table 2 に示すように IgA 濃度は 475±207 mg/dl (198~852), polymer 32.3±7.8% (20.0~48.2), monomer 67.7±7.8% (51.8~80.0) であり健康対照に比較して polymer の比率が有意 (P<0.01) の増加を認めた。IgA 濃度も有意 (P<0.01) の増加がみられ、polymer 型 IgA 濃度および monomer 型 IgA 濃度ともに有意 (P<0.01) の増加を示した。

Table 1 Molecular forms of serum IgA in healthy controls

No.	case	age/sex	IgA (mg/dl) in serum	polymer (%)	monomer (%)	polymer (mg/dl)	monomer (mg/dl)
1	T. G.	26 M	314	9.6	90.4	30	284
2	S. T.	24 F	314	21.6	78.4	68	246
3	A. D.	22 F	202	12.5	87.5	25	177
4	S. M.	23 F	182	20.6	79.4	37	145
5	A. M.	28 M	177	18.7	81.3	33	144
6	T. N.	26 F	170	28.9	71.1	49	121
7	S. T.	27 F	165	14.5	85.5	24	141
8	N. K.	29 M	164	19.9	80.1	33	131
9	O. S.	26 M	148	10.0	90.0	15	133
10	S. K.	18 F	130	20.8	79.2	27	103
mean			197±65	17.7±6.0	82.3±6.0	34±15	163±58

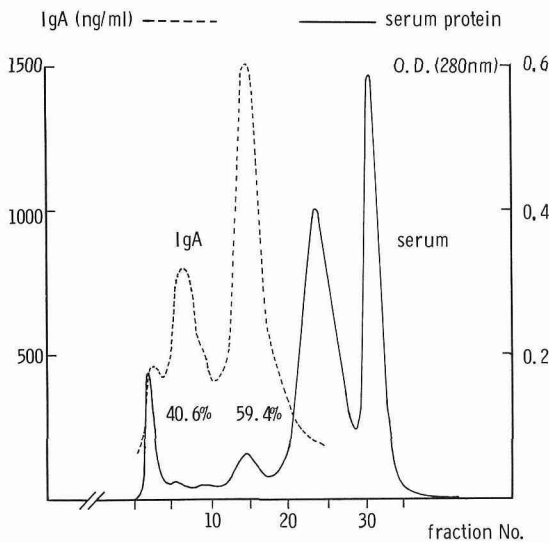


Fig. 4 Elution patterns of serum proteins and IgA by HLC in a patient (K.T.) with liver cirrhosis. (Serum IgA : 387 mg/dl)

3.3.3 Dimer 型 IgA 分画の免疫電気泳動分析

高 IgA 血症を呈した肝硬変症 H.R. 例の dimer 型 (polymer を含まない) IgA 分画および monomer 型 IgA 分画を免疫電気泳動法で分析し, Fig. 5 に示し

た. 抗 α 鎖血清による反応において, dimer 型 IgA 分画の沈降線は monomer 型 IgA 分画のそれに比べて well の近くに直線的な形状を呈し, 分子量が大きいことが推測される. これらの両分画と抗ヒト血清との反応をみると, IgA の沈降線のみが明らかで, 他の蛋白成分の混入が極めて少ないことが示された. また dimer 型 IgA 分画では IgA のすぐ陽極側に α_2 -macroglobulin あるいは β -lipoprotein (LDL) が微量に混在していたが, albumin や α_1 -antitrypsin の沈降線は認められなかった.

3.3.4 Dimer 型 IgA の SC 結合力

つぎに dimer 型 IgA 分画が SC と結合し得るか否かについて検討した. まず上記の H.R. 例の dimer 型 IgA 分画 (polymer を含まない) と ^{125}I 標識 SC を

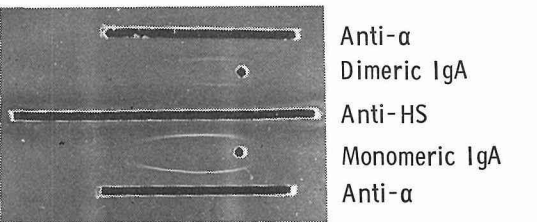


Fig. 5 Immuno-electrophoretic patterns of IgA fractionated by HLC

Table 2 Molecular forms of serum IgA in patients with liver cirrhosis

No.	case	age/sex	IgA (mg/dl) in serum	polymer (%)	monomer (%)	polymer (mg/dl)	monomer (mg/dl)
1	H. R.	68 F	852	34.3	65.7	292	560
2	M. R.	61 F	782	32.6	67.4	255	527
3	K. T.	33 M	705	48.2	51.8	340	365
4	O. S.	49 M	684	31.0	69.0	212	472
5	M. D.	68 F	637	45.6	54.4	290	347
6	K. Y.	55 M	525	28.0	72.0	147	378
7	S. N.	65 F	517	34.5	65.5	178	339
8	S. R.	55 M	478	36.1	63.9	173	305
9	K. T.	74 M	387	40.6	59.4	157	230
10	M. S.	50 M	386	24.4	75.6	94	292
11	F. B.	67 M	340	35.0	65.0	119	221
12	K. M.	49 M	340	25.0	75.0	85	255
13	K. I.	55 F	320	20.0	80.0	64	256
14	H. D.	70 M	245	24.0	76.0	59	186
15	K. B.	47 F	202	27.9	72.1	56	146
16	S. E.	60 F	198	30.0	70.0	59	139
mean			475 ± 207	32.3 ± 7.8	67.7 ± 7.8	161 ± 94	314 ± 126

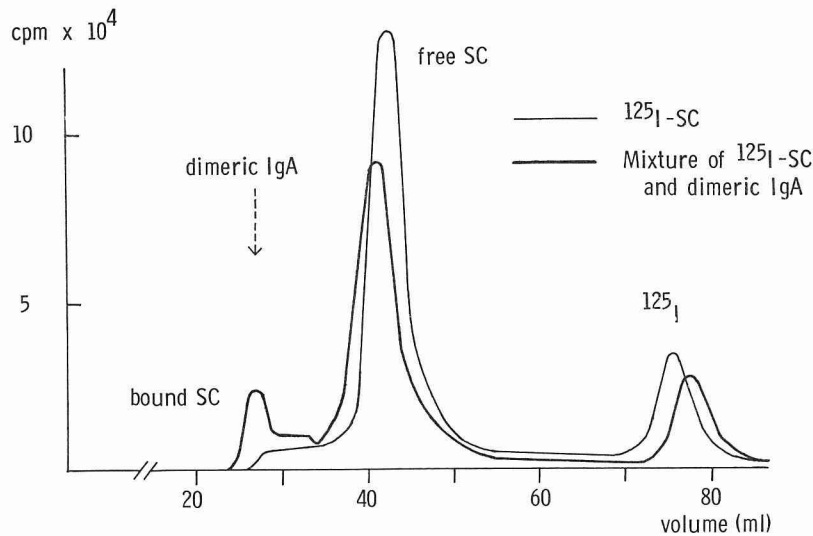


Fig. 6 Binding of dimeric IgA to ¹²⁵I-free secretory component

混合して反応させ、その Sephadex G-200 によるゲル濾過像を Fig. 6 に示した。 ¹²⁵I 標識 SC のみを分画した場合には細い実線に示すように、放射能の大部分が free SC の部位に溶出し、一部遊離の ¹²⁵I もみられたが、marker として用いた dimer 型 IgA の溶出部位には放射能は検出されなかった。これに対して ¹²⁵I-SC と H.R. 例の dimer 型 IgA 分画の反応物の溶出曲線は太い実線のように dimer 型 IgA に一致した溶出部位に放射能の出現が認められ、それに相当して ¹²⁵I-SC の放射能が低下した。このことから dimer 型 IgA に SC が結合することが明らかにされた。

3・4 骨髓血血清 IgA の分子性状

低形成性貧血 3 例および難治性の貧血を有した胃潰瘍患者 1 例の骨髓血血清を同様に検索し、IgA の polymer と monomer との比率を測定した結果を Table 3 に示した。平均して polymer 21.2%，monomer 78.8%であり健康対照血清と有意差はみ

られなかった。Fig. 7 に N.K. 例の骨髓血血清 IgA の溶出像を示したが、健康対照のそれ (Fig. 3) とは本質的な溶出像の差は認められなかった。

3・5 A 型急性肝炎例における血中 IgA 型 HA 抗体の分子性状

A 型肝炎患者の発症初期血清を HLC で分画し、IgA の溶出像と、IgA 型および IgM 型の HA 抗体の分布を対比して Fig. 8 に示した。この症例では dimer 型 IgA の peak が高く、血清 IgA の 44.0%を占めた。一方、HA 抗体についてみると IgA 型と IgM 型とは溶出曲線上明らかに異った peak を示し、IgA 型 HA 抗体の活性は大部分が dimer 分画に認められた。この現象は他の数例の A 型肝炎例でも認められた。

3・6 肝硬変症血清中の IgA 型抗 lactalbumin 抗体の分子性状

肝硬変症患者 S.R. 例の血清 IgA および IgA 型抗 L-alb 抗体の HLC 溶出像を対比して Fig. 9 に示した。この症例では血清 IgA (破線) が polymer 36.1%，

Table 3 Molecular forms of serum IgA from bone marrow blood

No.	case	age/sex	polymer (%)	monomer (%)	remarks
1	W. T.	67 F	31.2	68.8	hypoplastic anemia
2	T. K.	34 M	16.1	83.9	hypoplastic anemia
3	N. K.	40 M	21.8	78.2	hypoplastic anemia
4	S. T.	17 F	15.7	84.3	gastric ulcer
mean			21.2±7.3	78.8±7.3	

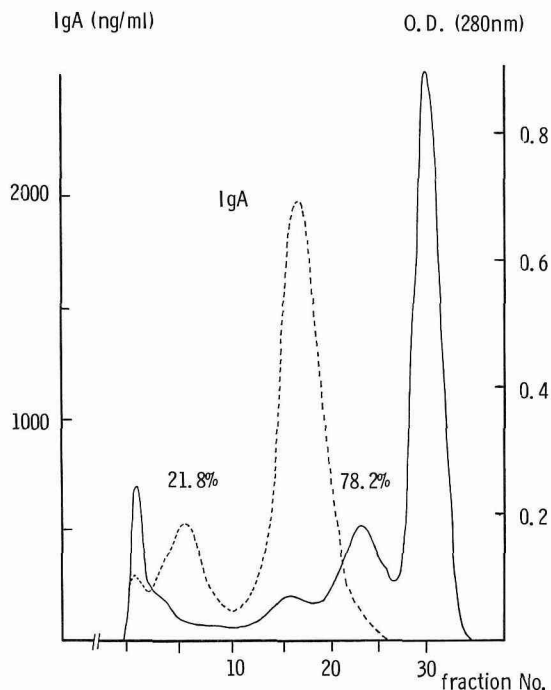


Fig. 7 Elution patterns of proteins and IgA in the serum of bone marrow blood in a patient (N.K.) with hypoplastic anemia.

monomer 63.9%とmonomer 優位であるのに比較して、IgA型抗L-alb抗体(実線)をみるとpolymer 52.1%, monomer 47.9%と逆転し、その比はpolymerとくにdimerにおいて明らかに高値を示した。

肝硬変症11例の血清IgAとIgA型抗L-alb抗体のpolymerとmonomerの比をそれぞれ比較してTable 4に示した。いずれの症例でもIgA型抗L-alb抗体ではpolymerの比率が大きく、血清IgAではpolymerが平均33.8%であるのに比べて抗L-alb抗体は平均54.7%と有意($p < 0.01$)の高値を示した。健康対照2例より同様に抗L-alb抗体を分離して検索すると、polymerは57.8%および48.2%, monomerは42.2%および51.8%であり、肝硬変症例とはほぼ同様の比率を示した。ただし得られたIgA型抗L-alb抗体の量は肝硬変症例に比べて少量であった。これらの成績から、食餌性抗原の代表として選んだL-albに対するIgA型抗体はpolymerとくにdimerが優位を占めることが明らかにされた。

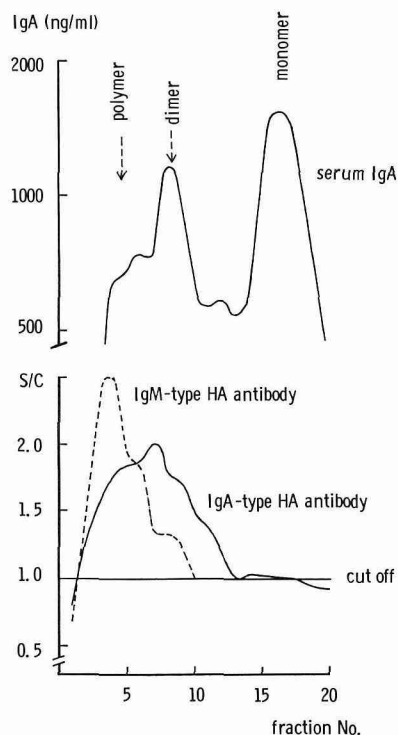


Fig. 8 Elution patterns of serum IgA and IgM- and IgA-type HA antibodies in a patient (N.N.) with hepatitis A by HLC

(Top : Serum IgA, Bottom : HA antibody)

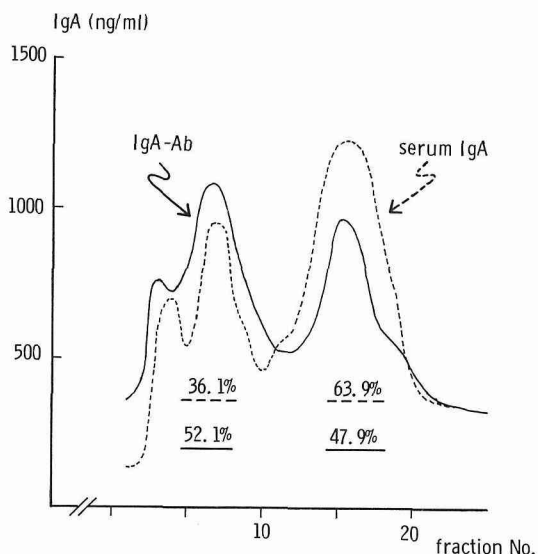
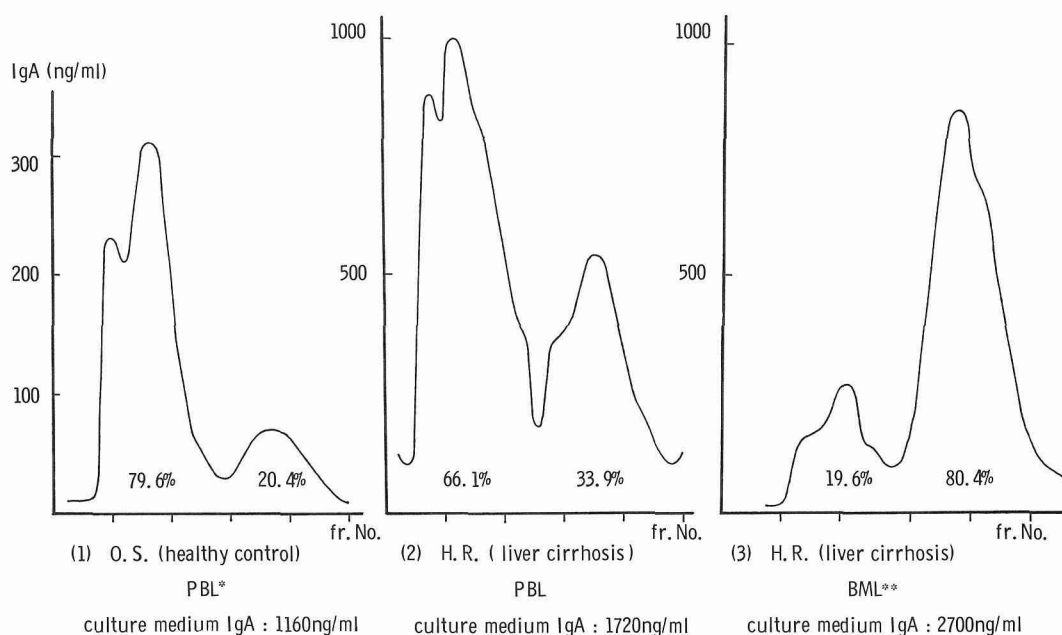


Fig. 9 Molecular forms of serum IgA and IgA-antibody against lactalbumin in a patient (S.R.) with liver cirrhosis by HLC.

(Serum IgA : 478 mg/dl)

Table 4 Molecular forms of serum IgA and IgA-type anti-L-alb antibody in patients with liver cirrhosis

No.	case	age/sex	IgA (mg/dl)	serum		anti-L-alb antibody	
				polymer (%)	monomer (%)	polymer (%)	monomer (%)
1	H. R.	68 F	852	34.3	65.7	54.1	45.9
2	M. R.	61 F	782	32.6	67.4	47.6	52.4
3	O. S.	49 M	684	31.0	69.0	43.4	56.6
4	M. D.	68 F	637	45.6	54.4	60.7	39.3
5	K. Y.	55 M	525	28.0	72.0	73.0	27.0
6	S. N.	65 F	517	34.5	65.5	67.1	32.9
7	S. R.	55 M	478	36.1	63.9	52.1	47.9
8	K. T.	74 M	387	40.6	59.4	61.3	38.7
9	F. B.	67 M	340	35.0	65.0	63.1	36.9
10	H. D.	70 M	245	24.0	76.0	35.0	65.0
11	S. E.	60 F	198	30.0	70.0	43.9	56.1
mean			513±212	33.8±5.9	66.2±5.9	54.7±11.5	45.3±11.5

**Fig. 10** HLC elution patterns of IgA in culture medium of lymphocytes.

PBL* : lymphocytes from peripheral blood

BML** : lymphocytes from bone marrow blood

3.7 PWM 刺激リンパ球培養上清中の IgA の分子性状

3.7.1 健康対照の末梢血リンパ球

健康対照 O. S. 例の PBL を PWM で刺激培養し、その培養上清を HLC で分画し、それらの分画中の IgA を測定して Fig. 10-(1) に示した。この例の PBL

1×10^6 個あたりの IgA 合成量は 1160 ng/ml であり、polymer : monomer 比は血清 IgA とは逆に polymer が大部分を占め、polymer 79.6%, monomer 20.4% であった。健康対照 11 例につき同様に検索した結果を Table 5 に示したが、平均して polymer $74.1 \pm 5.7\%$ (63.2~82.0), monomer $25.9 \pm 5.7\%$

Table 5 *IgA in the culture medium of peripheral blood lymphocytes from healthy controls*

No.	case	age/sex	IgA (ng/ml) in medium	polymer (%)	monomer (%)	polymer (ng/ml)	monomer (ng/ml)
1	A. R. *	28 M	700	69.3	30.7	485	215
2	T. K.	22 F	760	68.5	31.5	521	239
3	K. B.	26 M	2650	77.6	22.4	2056	594
4	S. B.	28 F	2200	67.8	32.2	1492	708
5	T. G.	26 M	2040	77.9	22.1	1589	451
6	S. T.	28 M	1450	76.5	23.5	1109	341
7	H. R.	27 M	1900	73.7	26.3	1400	500
8	F. Z.	24 F	1250	63.2	36.8	790	460
9	I. M.	23 F	1750	79.0	21.0	1383	368
10	M. R.	26 M	1130	82.0	18.0	927	203
11	O. S.	26 M	1160	79.6	20.4	923	237
mean			1545±587	74.1±5.7	25.9±5.7	1152±460	392±167

* viability of the cultured lymphocytes: 40%

(18.0~36.8) と polymer の比率が明らかに高値を示した。

3・7・2 肝硬変症例の末梢血リンパ球

肝硬変症 H.R. 例の PBL の培養上清の HLC 溶出像を Fig. 10-(2) に示した。健康対照 PBL に比べて

monomer の peak がやや高い傾向にあるが、Table 6 に示すごとく、肝硬変症 13 例では polymer 67.6±7.2% (55.3~85.3), monomer 32.4±7.2% (14.7~44.7) と monomer の比率は健康対照に比べて増加傾向 (p<0.05) を示した。しかし肝硬変症 PBL

Table 6 *IgA in the culture medium of peripheral blood lymphocytes from patients with liver cirrhosis*

No.	case	age/sex	IgA (ng/ml) in medium	polymer (%)	monomer (%)	polymer (ng/ml)	monomer (ng/ml)
1	M. Y.	60 M	1900	75.3	24.7	1431	469
2	F. W.	50 M	620	85.3	14.7	529	91
3	S. E. *	60 F	2200	66.1	33.9	1454	746
4	S. T.	79 F	2600	67.9	32.1	1765	835
5	S. H.	55 F	2100	69.4	30.6	1457	643
6	M. R.	61 F	1030	60.3	39.7	621	409
7	N. Y. **	53 F	710	55.3	44.7	393	317
8	H. R. ***	68 F	1720	66.1	33.9	1137	583
9	T. K.	49 F	940	70.4	29.6	662	278
10	K. Z.	54 F	240	64.8	35.2	156	84
11	T. H.	35 F	n. d.	65.9	34.1	n. d.	n. d.
12	K. Y.	55 M	n. d.	63.9	36.1	n. d.	n. d.
13	S. G.	44 F	>10000	68.6	31.4	n. d.	n. d.
mean			1406±796	67.6±7.2	32.4±7.2	960±552	445±259

viability of the cultured lymphocytes 39~60%

* T cell 54% B cell 41%

** T cell 18% B cell 79%

*** T cell 58% B cell 30%

T cell and B cell (%) were determined by E and EAC rosette formation test.

Table 7 IgA in the culture medium of bone marrow lymphocytes

No.	case	age/sex	IgA (ng/ml)	polymer (%)	monomer (%)	remarks
1	H. R.	68 F	2700	19.6	80.4	liver cirrhosis
2	B. D.	67 F	3500	29.5	70.5	Kimmelstiel-Wilson
mean			3100	24.6	75.4	

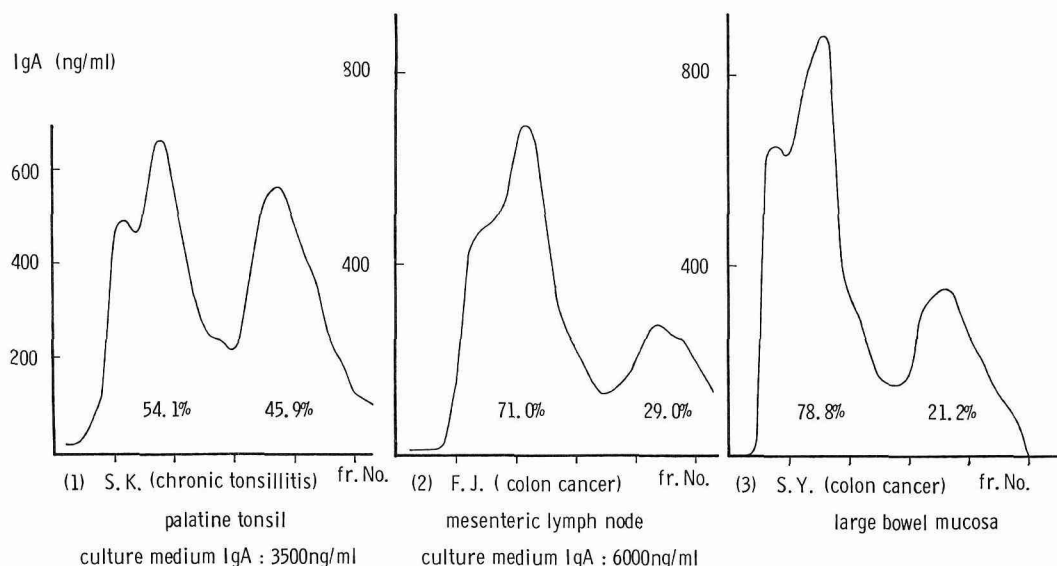


Fig. 11 HLC elution patterns of IgA in culture medium of lymphocytes.

(1×10^6) の IgA 合成量は平均 1406 ± 796 ng/ml と健康対照との間に有意差を認めなかった。

3・7・3 骨髓血リンパ球

肝硬変症 H.R. 例について骨髓血リンパ球の培養上清中の IgA を HLC 分画し Fig. 10-(3) に示した。この場合、PBL とは逆に polymer 19.6% に対し、monomer は 80.4% と極めて高く、健康対照血清中の IgA 像と類似を示した。他の 1 例についても Table 7 に示すごとくほぼ同様の値を示した。また、この場合骨髓球系および赤芽球系の細胞の混入がみられたが IgA 合成量は PBL のそれとほぼ同程度であった。

3・7・4 口蓋扁桃リンパ球

口蓋扁桃リンパ球培養上清中の IgA の HLC による分画像を Fig. 11-(1) に示した。polymer 54.1%, monomer 45.9% であり、同様に検索した 3 例の結果を Table 8 に示したが、平均値は polymer 55.9%, monomer 44.1% と前者がわずかに高かった。

3・7・5 腸間膜リンパ節および大腸粘膜のリンパ球

腸間膜リンパ節のリンパ球培養上清中の IgA の HLC による分画像を Fig. 11-(2) に示した。この例で

は polymer 71.0%, monomer 29.0% であった。同様に 5 検体 (4 名) について検索した結果を Table 8 に示したが、平均して polymer 72.4%, monomer 27.6% であり、polymer が優位であった。

大腸粘膜より分離したリンパ球の培養上清は 2 試料にすぎないが、その HLC による分画像を Fig. 11-(3) に示した。症例 1 では polymer 78.8%, monomer 21.2% であり、症例 2 でも polymer 73.9%, monomer 26.1% と明らかに polymer の優位が認められ、PBL や腸間膜リンパ節とはほぼ同様の比率であった。

4 考 察

血清 IgA 分子の heterogeneity の成因を解明すべく、本研究においては分離能および再現性にすぐれた HLC を用いることにより、血清およびリンパ球培養上清中の IgA を polymer と monomer に明確に分画することに成功し、健康対照血清では monomer が polymer に比べて多く、それに対して末梢血、腸管粘膜内および腸間膜リンパ節等のリンパ球が産生する

Table 8 IgA in the culture medium of lymphocytes from various lymphoid tissues

No.	case	age/sex	IgA(ng/ml)	polymer(%)	monomer(%)	T cell(%)*	B cell(%)*	remarks
tonsil								
1	S. K.	28 F	3500	54.1	45.9	45.0	58.3	chronic tonsillitis
2	N. T.	13 F	3700	62.3	37.7	37.1	70.1	chronic tonsillitis
3	K. T.	26 F	>10000	51.3	48.7	33.9	60.7	chronic tonsillitis
mean				55.9	44.1			
mesenteric lymph nodes**								
1	F. J.	78 M	6000	71.0	29.0	n. d.	n. d.	colon cancer
2	Y. Y. ***	32 F	1800	73.8	26.2	64.9	36.8	cholelithiasis
3	S. K.	51 M	6000	72.8	27.2	44.1	51.6	gastric ulcer
4	S. K. ***	51 M	>10000	75.5	24.5	64.5	45.9	gastric ulcer
5	T. N.	70 M	6000	68.9	31.1	40.5	53.6	colon cancer
mean				72.4±2.5	27.6±2.5			
large bowel								
1	S. Y.	49 F	n. d.	78.8	21.2	n. d.	n. d.	colon cancer
2	T. N.	70 M	n. d.	73.9	26.1	n. d.	n. d.	colon cancer
mean				76.4	23.6			

* T cell and B cell (%) were determined by E and EAC rosette formation test.

** viability: 50–58%

*** lymph nodes from omentum major

IgA は逆に polymer が主体であり、また骨髓血リンパ球産生 IgA は monomer が優位であることを見出した。さらに腸管を介して侵入する外来抗原や virus に対する血清中の IgA 型抗体は polymer 型であり、また慢性肝疾患患者血清中には主として polymer 型 IgA の増加が認められ、血清 IgA の動態に影響を及ぼす要因として polymer 型 IgA の産生・代謝機構が関連することを推論した。

以下、項目別に考察を述べる。

4.1 IgA の HLC による分画と分子性状について

IgA 分子の heterogeneity の分析には従来 Sephadex, Ultrogel^{11,12)}の分子ふるい効果や蔗糖密度勾配遠心法¹³⁾が用いられているが、操作が煩雑であり、また分離能は必ずしも良くない。しかし、本研究で用いた HLC は操作が簡単で、試料添加後約 40 分で分画が可能であり、しかも monomer 型と polymer 型 IgA は極めて明確に分離され、かつ溶出像の再現性も優れている。試料は 20 μ l と少量でよく、リンパ球の培養上清等の分析には好都合であり、その測定には RIA による微量測定法を必要とした。

HLC で用いた G-3000 SW column の充填剤はシリカゲルであるが、pH の高い緩衝液では粒子が多少不安定となる¹⁴⁾ため、pH 6.0 の酢酸緩衝液を用いて IgA の分画を施行したが、chymotrypsinogen のような塩基性蛋白は column へ吸着するため、標準溶出曲線から著しくはずれて溶出された。

しかし、IgA 分画を RIA による溶出像のうえから検討すると、monomer および dimer は明瞭に分離され、ほぼ満足な結果が得られた。ただし、polymer と dimer との分離は必ずしも良好とはいえず、とくに dimer が多量の場合には両者が overlap するため、一括して polymer として取扱った。

IgA の溶出部位を他の血清蛋白成分、とくに IgG と比較すると、monomer 型 IgA は IgG と M.W. が近似しているにもかかわらず、M.W. の大きな部位に溶出され、また dimer 型 IgA も同様の傾向が認められた。これらの事象は HLC による分画においては蛋白の M.W. のみならず分子の形態、column への吸着等を考慮する心要があろう。

また、IgA の RIA は Ceska and Lundkvist¹⁵⁾に準

じた固相法により測定した。この方法は sandwich 法を原理とし、 α 鎖の抗原決定基の数に対応して cpm が定まる。したがって IgA の monomer および polymer を測定する場合、同じモル濃度においては polymer の方が cpm が高いことが予想されるが、今回、monomer 型 IgA および polymer 型 IgA の検量曲線をそれぞれ作製して検討すると、IgA 濃度 (ng/ml) に対応して両者はきわめて近似的な検量曲線を描き、RIA による濃度の測定が可能であった。

HLC による IgA の peak は標準試料の溶出部位と比較すると、polymer 型、dimer 型および monomer 型 IgA と考えられたが、IgA はしばしば他の血清蛋白、とくに albumin や α_1 -antitrypsin と結合する^{16,17)} 場合があり、分子量のみからその分子形態を論ずるには種々の注意が必要である。それゆえ、分面された polymer 型 IgA が secretory component (SC) の結合能¹⁸⁾があるか、joining chain¹⁹⁾ (J 鎖) を有するか否か、さらに、他の血清蛋白と結合していないかどうか、を示す必要がある。

すべての polymer 型 IgA に J 鎖が存在するかについては異論²⁰⁾もあるが、今回は試料の量的な制約もあり、dimer 型 IgA 分画の¹²⁵I 標識 SC への結合性を検索した。Sephadex により分画すると、dimer 型 IgA の溶出部位に一致して SC の放射能が検出され、両者が結合することが示された。polymer 型 IgA と SC の結合は J 鎖が (Fc)₂ α と共有結合することによって SC に対する結合基が生ずる必要があるといわれる。²¹⁾したがって、今回の検索から、dimer 分画中の IgA は J 鎖を有することが間接的に示された。

さらに monomer および dimer 分画を濃縮し、免疫電気泳動を施行すると、それぞれ明らかな IgA の沈降線が認められるにもかかわらず、monomer 分画には他の血清蛋白成分はみられず、わずかに dimer 分画で β 位に薄い沈降線が認められるのみであった。以上の成績より HLC で dimer 分画に認められた IgA は分子量、SC との結合能およびその抗原性の点から J 鎖を有する dimer 型 IgA と同定することができた。

4.2 血清 polymer 型 IgA および monomer 型 IgA の病態変動について

まず、健康対照血清 IgA については、monomer 82.3%、polymer 17.7% という成績が得られたが、これは従来の報告^{1,11-13)}で約 4:1 と monomer が主体であるとする所見に一致した。これに対して、Radl et al²²⁾は polymer 型 IgA にのみ反応する特異抗血清

を作製し、血清中の polymer 型 IgA は 1% 以下と極めて少量であるとしているが、彼等以外に polymer 型 IgA に特異的な抗血清の作製に成功した報告は少なく、抗体の特異性に問題がありそうである。一方、ゲル濾過や蔗糖密度勾配遠心法による最近の成績^{11,13)}では 15% 前後の polymer 型 IgA の存在が証明されている。また、イヌ、ネコ、マウス等他の動物の血中 IgA については dimer が主体^{23,24)}であるとされ、ヒトと逆の現象が認められる。ヒトの場合には血中 dimer の比率が低く、monomer が主体であることがどのような意義を有するのか未だ明らかにされていない。

次に、このような血中 IgA 分子の heterogeneity がその産生部位、代謝および抗体としての機能とどのような関連を有するかを検討した。

慢性肝疾患、とくに慢性活動性肝炎、肝硬変症²⁵⁾およびアルコール性肝炎²⁶⁾では hypergammaglobulinemia がみられ、血中 IgA の著明な増加が認められるが、本研究においては慢性肝疾患では健康対照に比べて明らかに polymer の増加が認められた。これらの疾患では腎の mesangium や肝の sinusoid に polymer 型 IgA の沈着を認めるとの報告²⁷⁾があるが、血中に polymer の増加を直接的に証明したのは本研究が初めてである。

本研究と関連して、先に共同研究者の松谷 (私信) は慢性活動性肝炎や肝硬変症における hypergamma-globulinemia の成因をめぐって研究を進め、食餌性蛋白や LPS のような腸管感作性抗原に対する抗体を immunoglobulin 型別に測定して、IgA 型抗体の有意の増加を認め、かつその抗体価と血清 IgA 濃度が相関することを示し、血清 IgA 増加の機序として腸管粘膜局所における IgA 産生の亢進を示唆する成績を得ている。

本研究では食餌性抗原のひとつである L-alb を用い、肝硬変症患者血清よりその特異抗体分画を得て IgA を分析すると、血清の polymer 型 IgA の比率よりも、特異抗体分画では一層 polymer の比率が高く、腸管粘膜局所産生性 polymer 型 IgA が血清 IgA 濃度に密接な影響を及ぼすことを支持する所見と思われる。

さらに赤保内ら²⁸⁾は腸管を経由して virus 感染が成立すると考えられる急性 A 型肝炎患者について、その IgA 型抗体を特異的に測定する方法を開発し、本研究ではその抗体活性のほとんどが polymer に存在することを明らかにした。

以上のようにヒトの腸管感作の 2, 3 のモデルにお

ける特異抗体活性の分析面からみても、共通して IgA の polymer 型抗体が増加し、それが腸管局所で産生され、その一部が血中に流入するという現象が指摘できよう。

これら IgA の産生面からの分析のほかに最近血中の polymer 型 IgA は肝臓を介して分泌性 IgA として選択的に胆汁中へ排泄される²⁹⁾という代謝機構が明らかにされている。ラットを用いた動物実験では肝細胞表面に SC の存在を認め、これが receptor となって血中 polymer 型 IgA を調節するとの報告³⁰⁻³²⁾があり、ラットにおいては IgA の肝細胞内輸送が免疫電子顕微鏡的に証明³³⁾されている。しかし、ヒトの肝細胞膜表面の SC の存在や IgA の輸送は証明されておらず³⁴⁾、胆汁中への IgA の排泄が肝細胞を介するか、胆管上皮細胞を介するか等については結論が得られていない。

本研究により肝硬変症のごとく高度の肝機能障害を示す場合は血中 polymer 型 IgA 抗体の明らかな増加がみられ、また A 型肝炎初期の黄疸期には血中 IgA 濃度ならびに polymer 型 IgA・HA 抗体の増加がみられ、回復期には低下する現象¹⁰⁾、胆管閉塞等の実験的肝障害による polymer 型 IgA の著増³⁵⁾および polymer 型 IgA のみ選択的に胆汁中に排泄され、monomer は関与しないこと³⁰⁾などから、血中 IgA、とくに polymer 型の動態には肝・胆道系を介する代謝もまた重要な要因と考えられる。

4.3 リンパ球産生性 IgA の分析と血清 IgA の起源について

次に、PBL および各種のリンパ系組織に由来するリンパ球を PWM 刺激下に培養して、産生する IgA 分子の heterogeneity を検索し、血中の polymer 型および monomer 型 IgA の産生起源を検討した。

培養リンパ球は Conray-Ficoll で分離し、総数 1×10^6 個/ml とし、T および B 細胞数の比を調整せずに培養液を加え、加藤⁵⁾に準じて PWM の濃度、培養期間等その他の諸条件を設定した。1 週間培養後のリンパ球の生存率は 60% 前後であり、また PBL の培養上清中の IgA 濃度は 1500~3000 ng/ml の比較的一定した範囲内にあり、ほぼ満足すべき培養条件であった。

健康対照 PBL の産生する IgA は polymer 74%、monomer 26% とその比は血清と逆転した結果が得られたが、Kutteh et al²¹⁾も PBL に各種の mitogen を加えて培養し、Ultrogel で分析して polymer が 80% とほぼ一致した成績を示している。また、大腸粘膜および MLN のリンパ球を分離し、同様に検討すると、

polymer 型 IgA が 80% 近くを占め、gut-associated lymphoid system (GALS) において産生される IgA は分泌性 IgA に関連する polymer が主体であることが確認された。

ところで血清 IgA が monomer 主体であるにもかかわらず、PBL が GALS のリンパ球と同様に polymer 型 IgA を産生することはきわめて興味ある所見である。すなわち、パイエル板などの腸管粘膜リンパ系組織内に存在する IgA 分泌前駆細胞はその部位で抗原刺激を受けた後、MLN および胸管を経て、次第に分化しつつ、主として IgA 産生前駆細胞となり循環血流中に入り、ついで、再度腸管系へ運ばれて粘膜固有層に分布する³⁶⁾とされている。このような GALS への“homing”現象の機序^{37,38)}については未だ明らかではないが、PBL 産生の IgA が GALS 由来のリンパ球と同様に polymer が主体であることは、PWM 刺激により IgA 産生をきたす PBL は GALS あるいは他の粘膜免疫系に由来する IgA 産生を方向づけられた前駆細胞がその主体を占めるものと推測される。

これとは対照的に骨髄リンパ球の産生する IgA は monomer が 76% を占め、polymer の比率は培養リンパ球で最も低く、扁桃リンパ球では polymer, monomer はほぼ同比率で中間に位し、PBL, MLN および腸粘膜の順に polymer の比率が高くなる成績を得た。Radl et al³⁹⁾は骨髄内の polymer 型 IgA 含有細胞を検索し、その割合が血清 IgA にきわめて類似することから、血清中の IgA は monomer のみならず polymer も骨髄に由来すると述べている。今回の成績では骨髄血血清および骨髄リンパ球産生 IgA の分析では、血清と類似の像を呈し、Radl の説を全面的には否定できない。しかし、むしろ血清 IgA の起源は多能的と考えるべきで、それが GALS に密接に関連していることについては多くの報告^{40,41)}があり、本研究においては、とくに polymer 型 IgA が GALS に由来することを支持する成績が得られたといえよう。

さて、肝硬変症患者の PBL が産生する IgA は健康対照 PBL に比べ monomer の比率が有意の増加 ($P < 0.05$) を示し、患者血清中では polymer 型の増加が主体をなすが、monomer 型も増加する成績が得られた。このことは GALS における dimer 型を主体とする polymer 型 IgA の合成亢進が示唆されるとともに、monomer 型 IgA の増加については肝硬変症では肝内血流の bypass 形成⁴²⁾や Kupffer 細胞の抗原処理能の低下⁴³⁾がみられ、さらに最近では polymer 型

IgA の immune complex が肝で異化されることが知られてきており⁴⁾、その機序が障害される等の理由で抗原が循環血流に侵入して、GALS 以外のリンパ系組織、すなわち脾臓、骨髄、末梢リンパ節等を感作する可能性が推測される。

Tomasi and Grey¹⁾は血清 IgA 分子の heterogeneity の成因について 2 つの可能性を考え、ひとつは血中の polymer は腸管局所に由来し、monomer の一部は腸管に依存するが大部分は他のリンパ系組織に由来すること、他のひとつは腸管局所で polymer も monomer も産生され、polymer は分泌液中に、分子量の小さい monomer は血流中に入るということを推測した。本研究の成績からは前者の可能性がうまく示唆されたが、PBL が GALS 由来のリンパ球と同様に polymer 型 IgA を主体に産生することが明らかにされたことは、IgA 産生前駆細胞としてのこれらのリンパ球の“lodging”あるいは“homing”を解明するうえで重要な手掛りを与えるものと考えられる。

5 結 論

HLC と RIA を用いて IgA 分子の heterogeneity を分析し、健康対照および肝硬変症患者血清中の IgA、外来抗原に対する特異的な IgA 型抗体、さらに末梢血、大腸粘膜、腸間膜リンパ節、口蓋扁桃、骨髄血よりそれぞれ分離したリンパ球の培養上清の IgA について polymer 型および monomer 型 IgA の比率を検討した。その結果、以下の結論を得た。

1) 現在までの方法に比較して、HLC により polymer 型 IgA と monomer 型 IgA を明確に、簡便に、短時間内に分離し得た。

2) 健康対照の血清 IgA は主に monomer よりなり、平均 82% を占め、一方、polymer の比率は 18% であった。骨髄血清 IgA は末梢血と同様の比率を示した。これに対し、肝硬変症では血清の polymer 型 IgA の比率は上昇し、32% を占めた。

3) A 型肝炎初期血清中には IgA 型 HA 抗体を検出し得るが、その抗体活性は dimer 分画に主として認められた。さらに、肝硬変症患者血清中の IgA 型抗 L-alb 抗体の 55% は polymer 型であった。これらの成績から、腸管粘膜を経由する外来抗原に対する特異的な IgA 型抗体は polymer 型を呈し、これらの一部は GALS に由来していることが推測された。

4) 培養リンパ球が産生する IgA については、健康対照 PBL は主に polymer 型 IgA を産生し、平均 74% であり、血清中の IgA とは対照的であった。し

かし、肝硬変症 PBL では健康対照に比べて monomer の比率の上昇傾向が認められた。

5) 腸管粘膜、MLN から分離したリンパ球は主に polymer 型 IgA (74%) を産生し、一方、BML は主に monomer 型 IgA (76%) を産生した。口蓋扁桃リンパ球では polymer と monomer の比率は 56%, 44% とほぼ等しかった。

以上の結果より、血清 IgA の heterogeneity は主に GALS における IgA の産生に依存することが示唆された。しかし、同時に、これらの所見から血清 IgA の調節には肝臓での IgA の代謝が重要な役割を演じていることが推測された。

(本研究の一部は文部省科学研究費一般研究(B) 56480116 (谷内) の補助による。)

(御指導、御校閲いただいた本学内科学第一講座谷内 昭教授、研究に際して直接御指導をいただいた本講座の赤保内良和講師ならびに御協力をいただいた諸先生に謝意を表します。また、手術材料を提供して下さった、本学耳鼻科学講座形浦教授、第一外科学講座筒井講師、そのほかの諸先生に深謝します。)

文 献

1. Tomasi, T. B. and Grey, H. M.: Structure of immunoglobulin A. *Prog. Allergy* **16**, 81-213 (1972).
2. Maeda, S.: Studies on immunoglobulins in gastric juice and gastric mucosa. I-IV. *Sapporo Med. J.* **46**, 389-420 (1977).
3. 鈴木隆: 胃液および血清壁細胞抗体の対比研究. *札幌医誌* **51**, 1-14 (1982).
4. Bland, P. W., Richens, E. R., Britton, D. C. and Lloyd, J. V.: Isolation and purification of human large bowel mucosal lymphoid cells: effect of separation technique on functional characteristics. *Gut* **20**, 1037-1046 (1979).
5. 加藤康夫: 高 γ グロブリン血症における末梢血リンパ球機能に関する研究—とくに PWM 刺激免疫グロブリン産生について— *札幌医誌* **49**, 217-232 (1980).
6. McConahey, P. J. and Dixon, F. J.: A method of trace iodination of proteins for immunologic studies. *Int. Arch. Allergy* **29**, 185-189 (1966).
7. 小林邦彦: 分泌液中の IgA. *生物物理化学* **18**, 107-110 (1974).
8. 嵐 方之, 松谷茂幸, 川上康博, 菅 充生, 赤保内良和, 谷内 昭: A 型肝炎における HA 抗体の変動. *消化器と免疫* No. 6, 149-153, 土屋雅春編, 医歯

- 薬出版, 東京 (1981).
9. 菅 充生, 笹浪哲雄, 小玉俊典, 嵐 方之, 赤保内良和, 谷内 昭, 木下 博, 安斉哲郎: A 型肝炎における IgM 型 HA 抗体. 肝臓 **22**, 116 (1981).
 10. 赤保内良和, 菅 充生, 嵐 方之, 谷内 昭: A 型肝炎における血清 IgA の動態. 医学のあゆみ **119**, 83-85 (1981).
 11. Cuadorado, E. and Vaerman, J. F.: Existence of true IgA polymers in normal human serum. In: Peeters, H.: Protides of biological fluids, 25th Colloquium, 915-918, Pergamon Press, Oxford (1977).
 12. Kutteh, W. H., Koopman, W. J., Monley, M. E., Egan, M. and Mestecky, J.: Production of predominantly polymeric IgA by human peripheral blood lymphocytes stimulated *in vitro* with mitogen. J. Exp. Med. **152**, 1424-1429 (1980).
 13. Trascasa, M. L., Egido, J., Sancho, J., and Hernando, L.: IgA glomerulonephritis (Berger's disease): evidence of high serum level of polymeric IgA. Clin. Exp. Immunol. **42**, 247-254 (1980).
 14. 角野富三郎, 日裏久英, 海野益郎, 石川 治, 加藤芳男, 山下仁平, 堀尾武一: タンパク質の高速分子篩クロマトグラフィ. 137-190, 堀尾武一監修, 喜多見書房, 東京 (1980).
 15. Ceska, M. and Lundkvist, U.: A new and simple radioimmunoassay method for the determination of IgE. Immunochemistry **9**, 1021-1030 (1972).
 16. Hauptman, S. P. and Tomasi, T. B.: Antibodies to human albumin in cirrhotic sera. J. Clin. Invest. **54**, 122-127 (1974).
 17. Tomasi, T. B. and Hauptman, S. P.: The binding of α_1 -antitrypsin to human IgA. J. Immunol. **112**, 2274-2277 (1974).
 18. Weicker, J. and Underdown, B. J.: A study of the association of human secretory component with IgA and IgM proteins. J. Immunol. **114**, 1337-1344 (1975).
 19. Koshland, M. E.: Structure and function of the J chains. Adv. Immunol. **20**, 41-69 (1975).
 20. Tomasi, T. B. and Czerwinski, D. S.: Naturally occurring polymers of IgA lacking J chain. Scand. J. Immunol. **5**, 647-653 (1976).
 21. Cunningham-Rundles, C. and Lamm, M. E.: Reaction half-cystine peptides of the secretory component of human exocrine immunoglobulin A. J. Biol. Chem. **250**, 1987-1991 (1975).
 22. Radl, J., Swart, A. C. W. and Mestecky, J.: The nature of the polymeric serum IgA in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **150**, 482-484 (1975).
 23. Vaerman, J. P.: Comparative immunochemistry of IgA. Res. Immunochem. Immunobiol. **3**, 91-183 (1970).
 24. Kaartinen, M., Imir, T., Klockars, M., Sandholm, M. and Makela, O.: IgA in blood and thoracic duct lymph.: Concentration and degree of polymerization. Scand. J. Immunol. **7**, 229-232 (1978).
 25. Thompson, R. A., Corter, R., Stokes, R. P., Geedes, A. M. and Goodall, J. A. D.: Serum immunoglobulins, complement component levels and antibodies in liver disease. Clin. Exp. Immunol. **14**, 335-346 (1973).
 26. Wilson, I., Onstad, G. and Williams, R. C.: Serum immunoglobulin concentrations in patients with alcoholic liver disease. Gastroenterology **57**, 59-67 (1969).
 27. Kater, L., Jobsis, A. C., Baart, E. H., Faille-Kuyper, D., Vogten, A. J. M. and Grijm, R.: Alcoholic hepatic disease-specificity of IgA deposition in liver. Am. J. Clin. Pathol. **7**, 51-57 (1979).
 28. 赤保内良和, 菅 充生, 吉崎榮泰, 嵐 方之, 松谷茂幸, 池辺満夫, 谷内 昭: A 型肝炎における血中 IgA 型 HA 抗体の変動とその意義. 肝臓 **22**, 449 (1981).
 29. Orlans, E., Peppard, J., Reynold, J. and Hall, J.: Rapid active transport of immunoglobulin A. J. Exp. Med. **174**, 588-592 (1978).
 30. Fisher, M. M., Nagy, B., Bazin, H. and Underdown, B. J.: Biliary transport of IgA; Role of secretory component. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76**, 2008-2012 (1979).
 31. Orlans, E., Peppard, J., Fry, J. F., Hinton, R. H. and Mullock, B. M.: Secretory component as the receptor for polymeric IgA on rat hepatocytes. J. Exp. Med. **150**, 1577-1581 (1979).
 32. Socken, D. J., Jeejeebhoy, K. N., Bazin, H. and Underdown, B. J.: Identification of secretory component as an IgA receptor on rat hepatocytes. J. Exp. Med. **50**, 1538-1548 (1979).
 33. Birbeck, M. S. C., Cartwright, P., Hall, J. G., Orlans, E., and Peppard, J.: The transport by hepatocytes of immunoglobulin A from blood to bile visualized by autoradiography and electron microscopy. Immunology **37**, 444-484 (1979).
 34. Nagura, H., Smith, P. D., Nakane, P. K. and Brown, W. R.: IgA in human bile and liver. J. Immunol. **120**, 587-595 (1981).

35. Kaartinen, M.: Liver disease in mice and rats causes ten-fold increase of blood immunoglobulin A. *Scand. J. Immunol.* **7**, 519-522 (1978).
 36. Lamm, M. E.: Cellular aspects of immunoglobulin A. *Adv. Immunol.* **22**, 223-289 (1976).
 37. Rudzik, R., Clancy, R. L. Perey, D. Y. E.: Repopulation with IgA containing cells of bronchial and intestinal lamina propria after homologous Peyer's patch and bronchial lymphocytes. *J. Immunol.* **114**, 1599-1604 (1975).
 38. Crago, S. S. and Mestecky, J.: Secretory component: Interactions with intracellular and surface immunoglobulins of human lymphoid cells. *J. Immunol.* **122**, 906-911 (1979).
 39. Radl, J., Schuit, H. R. E., Mestecky, J. and Hijmans, W.: The origin of monomeric and polymeric forms of IgA in man. *Adv. Exp. Med. Biol.* **107**, 57-65 (1978).
 40. Vaerman, J. P., André, C., Bazin, H. and Heremans, J. P.: Mesenteric lymph as a major source of serum IgA in guinea pigs and rats. *Eur. J. Immunol.* **3**, 580-584 (1973).
 41. Savelahti, E.: IgA deficiency in children. Immunoglobulin-containing cells in the intestinal mucosa, immunoglobulin secretions and serum IgA levels. *Clin. Exp. Immunol.* **13**, 395-402 (1973).
 42. Keraan, M., Meyers, O. L., Engelbrech, G. H. C., Hickman, R., Saunders, S. J. and Terblanche, J.: Increased serum immunoglobulin levels following portal shunt in the normal rats. *Gut* **15**, 468-472 (1974).
 43. Simjee, A. E., Hamilton-Miller, J. M. T., Thomas, H. C., Brumfitt, W. and Sherlock, S.: Antibodies to *Escherichia coli* in chronic liver disease. *Gut* **16**, 871-875 (1975).
 44. Socken, D. J., Simms, E. S., Nagy, B. R., Fisher, M. M. and Underdown, B. J.: Secretory component-dependent hepatic transport of IgA antibody-antigen complexes. *J. Immunol.* **127**, 316-319 (1981).
-
- 別刷請求先：
(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学内科学第1講座 嵐 方之